## DELPHION









My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Der

## **Derwent Record**

☑ En

View: Expand Details Go to: Delphion Integrated View

Tools: Add to Work File: Create new Wor

Derwent Title:

Two dimensional crystalline macromolecule, esp. protein layer - comprises monolayer of biotinylated lipid, layer of streptavidin and layer of biotinylated

macromolecules

Original Title:

V

DE3939973A1: Zweidimensional kristallisierte Makromolekuelschichten

Assignee:

FUCHS H Individual

**BASF AG** Standard company

Other publications from BASF AG (BADI)...

Inventor:

AHLERS M; BLANKENBUR R; FUCHS H; LICHT U;

RINGSDORF H;

Accession/

1991-172301 / 199124

Update: IPC Code:

C07K 15/16; C07K 17/02; C12N 11/00; C12Q 1/00; G01N

33/54;

Derwent Classes:

B04; D16;

Manual Codes:

B04-B01B(Fats, lanolin, lipids), B04-B02C(Enzymes [general]), B04-B04A6(Proteins from animals or insects), B04-B04C5(Monoclonal antibody), B04-C01(Polypeptides [general]), B04-C02C(Dextran), B04-C03B(Other addition polymers [exc. poly n-vinyl lactams]), B06-F03(Other heterocyclic fused ring with 2 rings - sole heteros S and N), B11-C07B3(Fluorescence), B11-C08B(Testing/detection by potentiometry, polarography), B12-K04A(Diagnosis of diseases or conditions in animals general), D05-A01A4 (Industrial fermentation - natural material carrier [other than polysaccharide]) , D05-A01B(Industrial fermentation - fixed enzyme [general]) , D05-H09(Testing and detection [exc. bacteria, fungi, viruses])

Derwent Abstract:

(DE3939973A) Two-dimensional crystallised macromolecular layers consist of (1) a first monolayer of a lipid contg. biotin units; (2) attached to these units a second crystalline layer of streptavidin (I) and (3) a layer of biotinylated macromolecules (II) attached via the free active centres of (I).

USE/Advantage - This method allows (II), esp. proteins which do not form crystals naturally, to be crystallised in a form which permits their structural analysis by fluorescence or electron microscopy. This method is generally applicable (it does not require a specific ligand for each different protein) and is simple and quick. The films can also be used for control of enzymatic reactions, provided the protein retains its

activity when bound to (I).

Dwq.0/3

Family: PDF Patent Pub. Date Derwent Update Pages Language IPC Code

DE3939973A \* 1991-06-06

199124

C07K 17/02 German

Local appls.: DE1989003939973 Filed:1989-12-02 (89DE-3939973)

☑ JP03246300A = 1991-11-01 199150

English B41J 2/16

Local appls.: <u>JP1990000323393</u> Filed:1990-11-28 (90JP-0323393)

EP0431400A =

1991-06-12

199124

**English** 

C12N 11/00

Des. States: (R) AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE

Local appls.: EP1990000122257 Filed:1990-12-02 (90EP-0122257)

✓ CA2031246A = 1991-06-03 199133 C07K 17/02 English

Local appls.:

**INPADOC** Legal Status:

Show legal status actions

First Claim: Show all claims

Zweidimensional kristallisierte Makromolekülschichten bestehend aus einer ersten, Biotin-Einheiten tragenden lipiden Monoschicht und einer zweiten, an die Biotin-Einheiten sich anlagernde und kristallisierende Schicht aus Streptavidin sowie einer über die freien aktiven Zentren der Streptavidin-Schicht aufgebauten Schicht aus einem biotinilierten Makromolekül.

**Priority Number:** 

Application Number Filed		Original Title
DE1989003939973	1989-12-02	ZWEIDIMENSIONAL KRISTALLISIERTE MAKROMOLEKUELSCHICHTEN

Chemical **Indexing Codes:** 

Show chemical indexing codes

Ring Index

Show ring index numbers

Numbers: Citations:

PDF	Patent	Original Title
N	EP0116751	TWO-DIMENSIONAL CRYSTALLIZATION TECHNIQUE
A	<u>US4282287</u>	BIOCHEMICAL AVIDIN-BIOTIN MULTIPLE-LAYER SYSTEM
		Msg: 1.Jnl.Ref

Related Accessions:

Accession Number	Туре	Derwent Update	Derwent Title
C1991-074451	C		
N1991-131995	N		
2 items found			

Title Terms:

TWO DIMENSION CRYSTAL MACROMOLECULAR PROTEIN LAYER COMPRISE MONOLAYER BIOTINYLATED LIPID LAYER STREPTAVIDIN LAYER **BIOTINYLATED MACROMOLECULAR** 

Pricing Current charges

**Derwent Searches:** Boolean | Accession/Number | Advanced

Data copyright Thomson Derwent 2003

THOMSON

Copyright © 1997-2006 The Thor

Subscriptions | Web Seminars | Privacy | Terms & Conditions | Site Map | Contact U

(51) Int. Cl.5:

C 07 K 17/02



**DEUTSCHES** 

**PATENTAMT** 

(21) Aktenzeichen:

P 39 39 973.7

Anmeldetag:

2. 12. 89

(3) Offenlegungstag:

6. 6.91

(71) Anmelder:

BASF AG, 6700 Ludwigshafen, DE

② Erfinder:

Fuchs, Harald, Dr., 6719 Carlsberg, DE; Licht, Ulrike, Dr., 6800 Mannheim, DE; Ringsdorf, Helmut, Prof. Dr., 6500 Mainz, DE; Blankenburg, R., Dr., 6700 Ludwigshafen, DE; Ahlers, Michael, 6500 Mainz, DE

(54) Zweidimensional kristallisierte Makromolekülschichten

Die Erfindung betrifft zweidimensional kristallisierte Makromolekülschichten, welche unter Zuhilfenahme einer Biotineinheiten tragenden lipiden Monoschicht aufgebaut sind. 233....

Die Erfindung betrifft zweidimensional kristallisierte Makromolekülschichten, welche unter Zuhilfenahme einer Biotineinheiten tragenden lipiden Monoschicht aufgebaut sind.

Die Ausbildung kristalliner Schichten natürlicher Makromoleküle, insbesondere von Proteinen ist von besonderem Interesse. Solche Schichten erlauben Strukturuntersuchungen dieser Stoffe, die Möglichkeit zur Analyse 10 struktureller Zusammenhänge zwischen den Molekülen sowie gegebenenfalls die Ausarbeitung neuer Anwendungsbereiche. Gerade jedoch interessierende Proteine bilden auf natürlichem Wege keine für die Analyse geeignete Kristalle. Es hat deshalb nicht an Versuchen 15 gefehlt, kristallisierte Proteinschichten zu erzeugen. So berichteten Uzigiris & Kornberg (Nature 301 [1983] 125 - 129) von einem Verfahren zur Ausbildung zweidimensionaler Proteinschichten auf Lipidschichten. Dieses Verfahren gestattet die spezifische Bindung von 20 Proteinen an natürliche oder synthetische im ebenen Lipidfilm vorhandene Lipidliganden. Trotz der Bereitstellung einer Reihe von kristallisierten Proteinschichten bestand jedoch der Nachteil, daß für jedes Protein ein spezifischer Lipidligand, somit ein Protein-Antigen- 25 Paar, zur Verfügung stehen muß. In diesem Zusammenhang wurde auch die Bildung von speziellen Proteinschichten, denen des Streptavidins, mit Hilfe dieser Technik, vorgeschlagen. Dazu wurde das für die Lipidschicht vorgesehene Lipid mit einem Biotinliganden 30 versehen, so daß sich auf Grund der besonders hohen Affinität des Biotins zum Streptavidin die Streptavidinmoleküle an die Biotinliganden der Lipidschicht anlagern können und im Wasser/Luft-Übergangsbereich eine zweidimensional kristallisierte Streptavidinschicht 35 bilden. Die direkte Beobachtung solcher Schichten gelingt mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie, der kirstalline Charakter kann mittels Elektronenmikroskopie bestimmt werden (Blankenburg et al., Biochemistry 1989, Vol. 28, 8214).

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es somit, kristallisierte Makromolekülschichten bereitzustellen, welche bisher auf einfache Weise nicht zugänglich waren

Es wurde nun gefunden, daß sich die gestellte Aufgabe mit zweidimensional kristallisierten Makromolekülschichten lösen läßt, welche aus einer ersten, Biotin-Einheiten tragenden lipiden Monoschicht und einer zweiten, an die Biotin-Einheiten sich anlagernde und kristallisierende Schicht aus Streptavidin sowie einer über die freien aktiven Zentren der Streptavidin-Schicht aufgebauten Schicht aus einem biotinilierten Makromolekül.

Somit bestehen diese kristallisierten Makromolekülschichten aus biotinilierten Makromolekülen, welche an die Streptavidinschicht gebunden sind. In einer weiteren 55 Ausgestaltung der erfindungsgemäßen Schichten wird die Bindung indirekt über ein niedermolekulares oder polymeres Biotin-Ligand-Molekül erreicht. Die Kristallisation der zweiten Makromolekülschicht wird sowohl durch die rezeptoraffine Bindung als auch durch die 60 bereits vorhandene Ordnung der Streptavidinschicht induziert.

In einer besonderen Ausgestaltung der erfindungsgemäßen Schichten bestehen die Makromoleküle aus Proteinen.

Die erste, die erfindungsgemäßen kristallisierten Makromolekülschichten charakterisierende Biotin-Einheiten tragenden lipide Monoschicht besteht im allgemeinen aus den bekannten aminofunktionellen Lipiden.

Als besonders vorteilhaft im Sinne der Erfindung haben sich hierbei Verbindungen, wie z. B. N-biotinyl(S-(1,2-bis(octadecyloxycarbonyl)ethyl)cystein, N-biotinyl-S-1-carboxy-2-((N,N-dioctadecylamino)carbonyl)ethyl)cystein, N-biotinoyl-S-1-phosphatidyl3-glycerosn-dimyristoyl, N,N-dioctadecyl-N'-biotinyl-propanediamin and N,N-dioctadecyl-biotinamid erwiesen.

An diese biotinilierte Lipidschicht ist nun eine Streptavidin-Schicht über die spezifischen Rezeptoren angelagert. Streptavidin ist ein Protein, das vier identische Untereinheiten aufweist, wobei jede ein Biotinmolekül binden kann. Die nicht kovalente Bindung zwischen Streptavidin und Biotin ist bekanntermaßen eine der stärksten, der Wert Ka beträgt etwa 10<sup>15</sup> mol<sup>-1</sup>. Durch diese Anlagerung des Streptavidins an die Biotineinheiten der Lipidschicht entsteht eine geordnete, zweidimensionale Schicht, wie sie beispielhaft in Fig. 1 mit (A) = Lipid, (B) = Biotin und (C) = Streptavidin dargestellt ist. Auf diese Weise entstehen sehr große zweidimensionale Streptavidin-Bereiche in einer Ausdehnung von 50 bis 200 µm. Ihr Nachweis ist mit Hilfe der Fluoreszenz-Mikroskopie möglich.

Mit der dargestellten Oberfläche der zweidimensional kristallisierten Steptavidinschicht wird nun die Anlagerung eines biotinilierten, wasserlöslichen Makromoleküls, insbesondere eines biotinilierten Proteins an die freien Anlagerungsstellen der Biotinoberfläche möglich. Solche wasserlöslichen Makromoleküle können biotiniliertes Poly(meth)acrylat, Polylysin, Polyvinylalkohol oder Dextron sein. Sie dienen der Verankerung eines weiteren Ligandmoleküls an die bereits kristallisierte Oberfläche. Proteine, wie z. B. biotinilierte monoklonale Antikörper oder Enzyme können direkt an die Streptavidinschicht gebunden und in überraschend einfacher Weise zu kristallisierten Schichten aufgebaut werden. Die Fig. 2 und 3 zeigen die erfindungsgemäßen Schichten, wobei X allgemein für ein Makromolekül steht und die Quadrate 

das Protein darstellen sollen.

Die derart aufgebauten zweidimensional kristallisierten Makromolekül-Schichten lassen sich dadurch erhalten, daß ein wasserlösliches Biotin-Ligand-Adaptermolekül an die Streptavidinschicht gebunden wird und damit einem weiteren Protein neue Erkennungsstrukturen zur Verfügung stellt. Auch läßt sich ein wasserlösliches Polymer mit Biotin und Ligandstrukturen an die Streptavidinschicht binden, ebenso wie sich ein biotiniliertes Protein an die Streptavidinschicht koppeln läßt. Angaben für die experimentelle Vorgehensweise finden sich u.a. in Blankenburg et al., Biochemistry 1989, Vol. 28, 8214.

Der Nachweis der so erhaltenen Schichten erfolgt in einfacher Weise durch direkte fluoreszenzmikroskopische Beobachtung. Die Kristallinität der erhaltenen Schichten kann durch Elektronenmikroskopie nach Übertragung gemäß der Langmuir-Schäfer-Technik überprüft werden.

Die erfindungsgemäßen kristallisierten Makromolekülschichten erlauben die schnelle und einfache Bereitung von Proben zur Strukturuntersuchung dieser Makromoleküle, welche ansonsten nicht in kristallisierter Form vorliegen. Diese Schichten eignen sich auch zur Kontrolle enzymatischer Reaktionen, wenn der Proteintyp unter Erhalt seiner enzymatischen Aktivität an die Streptavidinschicht angekoppelt ist.

### Patentanspruch

Zweidimensional kristallisierte Makromolekülschichten bestehend aus einer ersten, Biotin-Einheiten tragenden lipiden Monoschicht und einer zweiten, an die Biotin-Einheiten sich anlagernde und kristallisierende Schicht aus Streptavidin sowie einer über die freien aktiven Zentren der Streptavidin-Schicht aufgebauten Schicht aus einem biotinilierten Makromolekül.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

Nummer: Int. Cl.<sup>5</sup>: DE 39 39 973 A1 C 07 K 17/02

Offenlegungstag:

6. Juni 1991

FIG.1

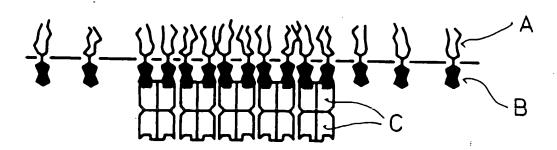


FIG.2

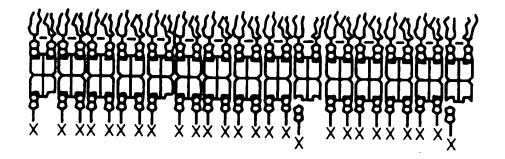
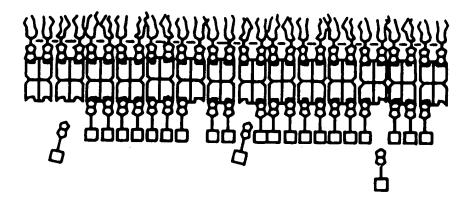


FIG.3



# **DELPHION**

RESEARCH



Log Int Work Files Saved Searches

My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Der

### **Derwent Record**

☑ En

View: Expand Details Go to: Delphion Integrated View

Tools: Add to Work File: Create new Wor

Derwent Title:

Production of matrix-bound miniaturised combinatorial polymer and oligomer library - using micro-patterned stamp to selectively de-protect terminal

functional groups

Original Title:

 $\square$ DE19543232A1: Herstellung einer Matrix-gebundenen miniaturisierten kombinatorischen Poly- und Oligomerbibliothek

Assignee:

KNOELL INST NATURSTOFF FORSCH EV HANS Non-

standard company

Inventor:

**ERMANTRAUT J; SALUZ H; WOELFL S;** 

\* Accession/

₹ IPC Code:

1997-273430 / 199725

Update:

C07H 21/04; C07K 14/00; C08B 37/00;

Derwent Classes:

**B04**; **D16**;

<sup>♠</sup> Manual Codes: ...

B04-C02(Polysaccharides [general]), B04-E01(Nucleic acid general and other), B04-N04(Protein/polypeptide of undefined origin (no sequence)), D05-H09(Testing and

detection [exc. bacteria, fungi, viruses]), D05-H18(Genetic

engineering techniques, new methods)

Derwent Abstract:

(DE19543232A) Production of a matrix-bound miniaturised combinatorial polymer and oligomer library of nucleic acids, peptides, sugars and other chemical compounds, which are prepared by multistep synthesis, uses a chemically inert stamp. The active surface of the stamp is micro-structured in a manner determined by the selected synthesis algorithm to allow selective access to defined loci on a substrate. The substrate is an insert solid support on whose surface a monolayer of a linker with a terminal protected functional group is covalently bound.

The process comprises:

(a) dipping the stamp in a solution containing a reagent capable of deprotecting the terminal functional group.

(b) contacting the stamp with the substrate to deprotect the functional groups at the contact sites,

(c) washing the substrate with an inert solvent.

(d) coating the substrate with a first activated chemical building block so that chain extension takes place on the deprotected functional groups, and

(e) repeating steps (a)-(d) using stamps whose [microstructure] patterns are adapted to access predetermined loci on the substrate according to the synthesis algorithm. Advantage - The object is to overcome the drawbacks of the process described in J. Biotechnol., 35(2-3), 217 (1994), which is uneconomic in that capillaries have to be completely filled with reagents, cannot synthesise all variants of a polymer molecule, and requires a micro-structured support.

Dwg.0/3

Family:

PDF Patent Pub. Date Derwent Update Pages Language IPC Code

DE19543232A1 \* 1997-05-15

199725

German

C07H 21/04

Local appls.: DE1995001043232 Filed:1995-11-07 (95DE-1043232)

INPADOC Legal Status:

Show legal status actions

First Claim:

Show all claims

- 1. Verfahren zur Herstellung einer Matrix-gebundenen miniaturisierten kombinatorischen Polymer- und Oligomerbibliothek von Nukleinsäuren, Peptiden, Zuckern und anderen chemischen Verbindungen, die durch Mehrschrittsynthese hergestellt werden; und Kombinationen daraus, unter Verwendung eines chemisch inerten Stempels, dessen aktive Oberfläche eine durch den gewählten Synthesealgorithmus vorbestimmte Mikrostrukturierung aufweist, wodurch ein selektives Ansprechen definierter Loci auf einem Substrat ermöglicht wird, und eines Substrats, bei dem es sich um einen festen inerten Träger handelt, auf dessen Oberfläche eine Monoschicht aus einem Linker mit einer terminalen geschützten funktionellen Gruppe kovalent gebunden ist, dadurch gekennzeichnet, daß
  - a. besagter Stempel in eine Lösung enthaltend ein für die Freisetzung der terminalen geschützten funktionellen Gruppen geeignetes Entschützungsreagenz getaucht wird,
  - b. der mit dem Entschützungsreagenz benetzte Stempel mit dem besagtem Substrat in Kontakt gebracht wird, wodurch an den Kontaktflächen die terminalen funktionellen Gruppen freigesetzt werden,
  - c. nach Waschen mit einem inerten Lösungsmittel das Substrat mit einem ersten aktivierten chemischen Baustein überschichtet wird, wodurch an den freigesetzten terminalen funktionellen Gruppen eine Kettenverlängerung durch den besagten chemischen Baustein erfolgt,

Priority Number:

<b>Application Number</b>	Filed	Original Title
DE1995001043232	1995-11-07	

Related Accessions:

Accession Number	Туре	Derwent Update	Derwent Title
C1997-088140	С		
1 item found			

িTitle Terms:

PRODUCE MATRIX BOUND MINIATURE COMBINATION POLYMER OLIGOMER LIBRARY MICRO PATTERN STAMP SELECT DE PROTECT TERMINAL FUNCTION GROUP

Pricing Current charges

Derwent Searches: Boolean | Accession/Number | Advanced

Data copyright Thomson Derwent 2003

THOMSON

Copyright © 1997-2006 The Thai

Subscriptions | Web Seminars | Privacy | Terms & Conditions | Site Map | Contact U

# **DELPHION**











My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Der

### Derwent Record

☑ En

View: Expand Details Go to: Delphion Integrated View

Tools: Add to Work File: Create new Wor

Derwent Title:

Production of matrix-bound miniaturised combinatorial polymer and oligomer

library - using micro-patterned stamp to selectively de-protect terminal

functional groups

Original Title:

DE19543232A1: Herstellung einer Matrix-gebundenen miniaturisierten

kombinatorischen Poly- und Oligomerbibliothek

Assignee:

KNOELL INST NATURSTOFF FORSCH EV HANS Non-

standard company

Inventor:

ERMANTRAUT J; SALUZ H; WOELFL S;

Accession/

1997-273430 / 199725

Update:

SIPC Code: C07H 21/04; C07K 14/00; C08B 37/00;

Derwent Classes:

**B04**; **D16**;

Manual Codes:

B04-C02(Polysaccharides [general]), B04-E01(Nucleic acid

general and other), B04-N04(Protein/polypeptide of undefined origin (no sequence)), D05-H09(Testing and detection [exc. bacteria, fungi, viruses]) , D05-H18(Genetic

engineering techniques, new methods)

Derwent Abstract:

( DE19543232A) Production of a matrix-bound miniaturised combinatorial polymer and oligomer library of nucleic acids, peptides, sugars and other chemical compounds, which are prepared by multistep synthesis, uses a chemically inert stamp. The active surface of the stamp is micro-structured in a manner determined by the selected synthesis algorithm to allow selective access to defined loci on a substrate. The substrate is an insert solid support on whose surface a monolayer of

a linker with a terminal protected functional group is covalently bound.

The process comprises:

(a) dipping the stamp in a solution containing a reagent capable of deprotecting the terminal functional group,

(b) contacting the stamp with the substrate to deprotect the functional groups at the contact sites.

(c) washing the substrate with an inert solvent,

(d) coating the substrate with a first activated chemical building block so that chain extension takes place on the deprotected functional groups, and

(e) repeating steps (a)-(d) using stamps whose [microstructure] patterns are adapted to access predetermined loci on the substrate according to the synthesis algorithm. Advantage - The object is to overcome the drawbacks of the process described in

J. Biotechnol., 35(2-3), 217 (1994), which is uneconomic in that capillaries have to be completely filled with reagents, cannot synthesise all variants of a polymer molecule, and requires a micro-structured support.

Dwq.0/3

Family:

PDF Patent

Pub. Date Derwent Update Pages Language IPC Code

**DE19543232A1** \* 1997-05-15

199725

German

C07H 21/04

Local appls.: DE1995001043232 Filed:1995-11-07 (95DE-1043232)

INPADOC Legal Status:

Show legal status actions

First Claim: Show all claims

- 1. Verfahren zur Herstellung einer Matrix-gebundenen miniaturisierten kombinatorischen Polymer- und Oligomerbibliothek von Nukleinsäuren, Peptiden, Zuckern und anderen chemischen Verbindungen, die durch Mehrschrittsynthese hergestellt werden; und Kombinationen daraus, unter Verwendung eines chemisch inerten Stempels, dessen aktive Oberfläche eine durch den gewählten Synthesealgorithmus vorbestimmte Mikrostrukturierung aufweist, wodurch ein selektives Ansprechen definierter Loci auf einem Substrat ermöglicht wird, und eines Substrats, bei dem es sich um einen festen inerten Träger handelt, auf dessen Oberfläche eine Monoschicht aus einem Linker mit einer terminalen geschützten funktionellen Gruppe kovalent gebunden ist, dadurch gekennzeichnet, daß
  - a. besagter Stempel in eine Lösung enthaltend ein für die Freisetzung der terminalen geschützten funktionellen Gruppen geeignetes Entschützungsreagenz getaucht wird,
  - b. der mit dem Entschützungsreagenz benetzte Stempel mit dem besagtem Substrat in Kontakt gebracht wird, wodurch an den Kontaktflächen die terminalen funktionellen Gruppen freigesetzt werden,
  - c. nach Waschen mit einem inerten Lösungsmittel das Substrat mit einem ersten aktivierten chemischen Baustein überschichtet wird, wodurch an den freigesetzten terminalen funktionellen Gruppen eine Kettenverlängerung durch den besagten chemischen Baustein erfolgt,
  - d. die Synthesefolge der Schritte a-c beliebig oft wiederholt wird, bis die gemäß Synthesealgorithmus gewünschte Kettenlänge hergestellt ist, wobei bei jedem Syntheseschritt definierte Loci auf besagtem Substrat durch Verwendung von Stempeln mit vorbestimmten Mustern angesprochen werden.

**Priority Number:** 

<b>Application Number</b>	Filed	Original Title
DE1995001043232	1995-11-07	

Related Accessions:

Accession Number	Туре	Derwent Update	Derwent Title
C1997-088140 <sup>°</sup>	С		-
1 item found			

Title Terms:

PRODUCE MATRIX BOUND MINIATURE COMBINATION POLYMER OLIGOMER LIBRARY MICRO PATTERN STAMP SELECT DE PROTECT TERMINAL FUNCTION GROUP

Pricing Current charges

Derwent Searches: Boolean | Accession/Number | Advanced

Data copyright Thomson Derwent 2003

THOMSON

Copyright © 1997-2006 The Thoi

Subscriptions | Web Seminars | Privacy | Terms & Conditions | Site Map | Contact U